

温州ミカン果汁中のキサントフィルエステル

多田 幹郎

(生物化学研究室)

Received November 1, 1986

Xanthophyll Ester of *Citrus Unshiu* Juice

Mikiro TADA

(Laboratory of Biological Chemistry)

From the results of thin layer chromatographic behaviour and gas chromatographic analysis of saponified and unsaponified carotenoids of *Citrus Unshiu* juice, most of xanthophyll in juice were esterified with higher fatty acid such as lauric, myristic and palmitic acids. The analysis of these carotenoids from seven varieties of *Citrus Unshiu* fresh showed that more than 80% of the total carotenoid and more than 90% of total xanthophyll were esterified and no significant differences were observed among the varieties. No significant changes were observed either in the content ratios of esterified carotenoid in juice during the processing and storage. This phenomena can be used as a criterion for the purity analysis of juice.

緒 言

CURL²⁾ はバレンシアオレンジのキサントフィルの大部分がエステル化されていることを報告した。また地中海沿岸諸国で栽培されているマンダリン^{1,5)}、タンジェリン^{1,3)}の果肉には全カロチノイドの10~16%のキサントフィルエステルが存在することが報告されている。

一方 BENK¹⁾ はキサントフィル含有量から果汁の混合率を測定することを試み、また DI GIACOMO⁴⁾ はマンダリン果汁製造工程中にキサントフィルエステル含有量が増加することを認めている。さらに PHILIP^{6,7)} はバレンシアオレンジ、テンプルオレンジのキサントフィルエステルの性質を調べてエステルを構成する酸が高級脂肪酸であることを明らかにした。しかし、温州ミカンについてのキサントフィルエステルに関する研究は見当たらない。

筆者らは温州ミカン果肉のキサントフィルエステルの分離、定量及び定性方法の検討を行い、さらにキサントフィルエステルの含有量について、系統間による差異、果汁製造工程中的変化、市販果汁における含有量について調べ、果汁の純度判定の指標としての可能性について検討したので報告する。

材 料 と 方 法

1. 試 料

柑橘果実は農林省果樹試験場興津支場、広島県果樹試験場柑橘試験地、岡山大学農学部本島農場において栽培され樹上で完熟したものを採取した。製造工程中の試料は、和歌山県の果汁製造工場で採取した。

2. カロチノイドの抽出及び精製

果肉および果汁からのカロチノイドの抽出は前報⁸⁾に従い、アセトン抽出物をエーテルに

溶かし、その溶液を -20°C で20時間冷却し、析出する沈澱物を冷却遠心機で除去した。この操作を3回繰返して得たエーテル溶液を実験に供した。

3. 標品キサントフィルエステルの調製

温州ミカンより単離した⁹⁾ ルテイン及び β -クリプトキサンチンをピリジン存在下でパルミチン酸クロリドと反応させ、ルテインジパルミテート、 β -クリプトキサンチンパルミテートを調製して TLC の標品として用いた。

4. カロチノイドの定量

カロチン、キサントフィル、キサントフィルエステルの定量は、全て β -カロチン換算値とし、前報の方法⁸⁾で行なった。なお、調製したキサントフィルエステルを用いて、ケン化処理前後における吸収スペクトルを測定し、 λ_{max} および吸光係数に殆んど差のないことを確めた。

5. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

TLC プレートは市販品 (Kieselgel 60, Merck) を使用し、展開溶媒はベンゼン、エーテル、メタノールの 50:45:5 の混合系に、抗酸化剤として BHT を 0.5% (w/v) 加えて使用した。この方法によると、柑橘のカロチノイドをその分子中の遊離水酸基の数によって分別することができる⁸⁾。

6. ガスクロマトグラフィー (GLC)

キサントフィルエステルのケン化処理によって得たケン化物はジアゾメタンでメチル化し、GLC (カラム: 3 mm \times 3 m, 担体: Simalite, 60~80 mesh, 液相: DEGS 15%, 温度: 185 $^{\circ}\text{C}$) にかけて、標品との保持時間の比較により同定した。

結 果 と 考 察

1. キサントフィルエステルの定性

温州ミカン (尾張系温州) の果肉から抽出した全カロチノイドとそのケン化処理したものについての TLC を Fig. 1 に示した。ケン化処理後の TLC (a) は前報⁸⁾ で報告した結果と同様に構成カロチノイドのカロチノイドパターンを示すもので、相当するバンドをかき取り、溶出後定量した結果、H (hydrocarbon) 画分: 7.9%, M (mono-ol) 画分: 71.3%, D (di-ol) 画分: 16.4%, P (poly-ol) 画分: 4.4% を示し、温州ミカンのカロチノイドパターンの普遍性¹⁰⁾ と一致する。それに対して、ケン化処理を受けない場合の TLC (b) は、H 画分に相当するものが全体の 90.7% を占め、M, D, P 画分はそれぞれ 6.9%, 1.8%, 0.6% であった。さらにこの H 画分に相当するカロチノイドをケン化処理して得た TLC (c) は (a) と近似しており、H, M, D, P 画分はそれぞれ 8.8, 70.2, 16.2, 4.8% であった。

前述したように PHILIP^{6,7)} らは数種の柑橘果肉にキサントフィルのラウリン酸エステルが存在したと報告していることから、温州ミカンにおいても同様であると考えられる。そこで、調製した β -クリプトキサンチンパルミテートおよびルテインジパルミテート標品を TLC にかけた結果、Fig. 1 に示すように、両者共に H 画分に相当する R_f 値を示した。さらに、H 画分に相当する非極性成分を集め、ケン化処理して得たケン化物を GLC にかけた結果、Fig. 2 に示すようにラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸が主要成分として存在していることを認めた。

以上の結果から、温州ミカン果肉におけるキサントフィルは、その大部分が高級脂肪酸エステルとして存在していると考えられる。また TLC 分析の結果からはキサントフィルはその構造の差の如何にかかわらずほぼ等しくエステル化を受けているものと思われるが、特定のキサントフィルに結合している脂肪酸が特定のものに限られるのか否かなどの詳しいことは今後の研究にまたねばならない。

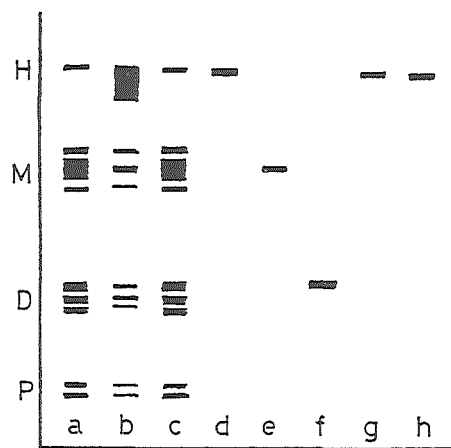


Fig. 1 Thin layer chromatogram of carotenoids from *Citrus Unshiu* fresh.

- (a) Saponified total carotenoid
- (b) Unsaponified total carotenoid
- (c) Saponified non-polar carotenoid corresponding H-group of TLC (b).
- (d) β -carotene
- (e) β -cryptoxanthin
- (f) Lutein
- (g) β -cryptoxanthin palmitate
- (h) Lutein dipalmitate

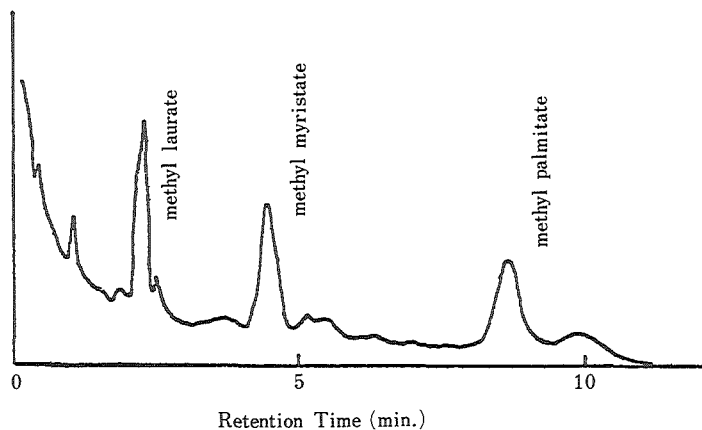


Fig. 2 Gas chromatogram of hydrolysates from xanthophyll ester fraction.

2. キサントフィルエステルの定量

抽出して、ケン化処理を施す前の全カロチノイド及びケン化処理後のカロチノイドをFig. 1と同条件でTLCにより分離して、それぞれのバンドをかきとり、エーテルで色素を溶出して定量を行った。前者からは全カロチノイドに対する遊離キサントフィルの占める割合が求められ、後者からは全カロチノイドに対する全キサントフィルの割合を求めることができる。

このようにして求めた値から、全カロチノイドに対するキサントフィルエステルの割合(エステル含有率)及び全キサントフィルに対するキサントフィルエステルの割合(エステル化率)が算出できる。Fig. 1の実験で得た尾張系温州果肉について調べてみると、全カロチノイドに対する全キサントフィルの割合はTLC(a)より92.1%となり、TLC(b)からは遊離キサントフィルの割合が9.3%になる。従ってエステル含有率は82.8%であり、エステル化率は89.9%となる。このような定量方法を用いて、温州ミカンの系統間による差異、果汁製造工程中の変化、市販果汁についての定量を行った。

3. 温州ミカン果肉のキサントフィルエステル

温州ミカンの代表的な7系統の品種について調べた結果をTable 1に示した。分析した試料はいずれも86~92%の高いエステル化率を示し、エステル含有率と共に系統間における差は殆どなく、既に報告^{8,10)}したカロチノイドパターンの普遍性と共に、これらの値も普遍的であると考えられる。また、前述の研究者らの報告と合せて考えると柑橘類の種によってエステル含有率、エステル化率が異なっていることが予想され、カロチノイドによる柑橘の分類¹¹⁾における指標の一つとなる可能性もある。

Table 1 Contents of xanthophyll ester of various *Citrus Unshiu* fresh

	Total carotenoid (mg%)	Total xanthophyll (mg%)	Total xanthophyll ester (mg%)	Content of xanthophyll ester (%) ^{a)}	Ratio of esterification (%) ^{b)}
Sugiyama U.	2.32	2.18	1.89	81.0	86.7
Miyagawa U.	2.60	2.41	2.16	83.1	89.6
Owari U.	2.31	2.11	1.83	79.2	86.7
Hayashi U.	2.49	2.31	2.12	85.1	91.8
Sato U.	2.23	2.05	1.84	82.5	89.8
Yakushiji U.	2.37	2.16	1.98	83.5	91.7
Yonezawa U.	2.01	1.89	1.70	84.6	89.9

a) Proportion (%) of total xanthophyll ester to total carotenoid.

b) Proportion (%) of total xanthophyll ester to total xanthophyll.

4. 果汁製造工程中におけるキサントフィルエステルの変化

DI GIACOMO ら⁴⁾はマンダリン果汁製造工程中、特に濃縮工程において、エステル含有率が増加することを報告した。しかし、温州ミカンにおいては、Table 2に示すように、製造工程中に、エステル含有量、エステル化率共に殆ど変化せず、キサントフィルエステルが安定であり、選択的に除去されたり、蓄積されたりしないことを示している。

5. 市販果汁のキサントフィルエステルの定量

JAS 標示のある8種の市販果汁のキサントフィルエステルを分析してTable 3に示した。全試料はその果汁濃度、全カロチノイド含有量に関係なく、ほぼ一定の高いエステル化率を示し、流過程における安定性が確められた。なお、パレンシアオレンジ果汁及び夏橙果汁の添加が表示されているものについても、高いエステル化率を示した。この事実は、パレン

Table 2 Changes of xanthophyll ester content in the manufacturing process

	Total carotenoid (mg%)	Total xanthophyll (mg%)	Total xanthophyll ester (mg%)	Content of xanthophyll ester (%) ^{a)}	Ratio of esterification (%) ^{b)}
Extraction	2.14	1.97	1.72	80.4	87.3
1st. Pulp- Elimination	1.73	1.59	1.43	82.6	89.9
2nd. Pulp- Elimination	0.94	0.86	0.77	81.9	89.5
Heating	0.89	0.83	0.74	83.1	89.2
Evaporation	3.62	3.35	3.00	82.8	89.6

a) Proportion (%) of total xanthophyll ester to total carotenoid.

b) Proportion (%) of total xanthophyll ester to total xanthophyll.

Table 3 Contents of xanthophyll ester of commercial orange juice

Sample	Total carotenoid (mg%)	Total xanthophyll (mg%)	Total xanthophyll ester (mg%)	Content of xanthophyll ester (%) ^{a)}	Ratio of esterification (%) ^{b)}
I (100%, JAS) ^{c)}	2.37	2.12	1.91	80.6	90.1
II (100%, JAS) ^{c)}	1.98	1.80	1.64	82.8	91.1
III (100%) ^{d)}	1.08	0.99	0.88	81.5	88.8
IV (100%, JAS) ^{e)}	1.50	1.37	1.22	81.3	89.0
V (50%, JAS) ^{d)}	0.63	0.58	0.53	84.1	91.4
VI (50%, JAS) ^{f)}	0.48	0.44	0.39	81.3	88.6
VII (20%) ^{d)}	0.29	0.26	0.24	82.8	92.3
VIII (10%, JAS) ^{f)}	0.18	0.16	0.14	77.8	87.5

a) Proportion (%) of total xanthophyll ester to total carotenoid.

b) Proportion (%) of total xanthophyll ester to total xanthophyll.

c) Indicated in label as : straight juice, *Unshiu* only.d) " : reconstructed juice, *Unshiu* only.e) " : reconstructed juice, blend juice of *Unshiu* and *Valencia* orange.f) " : reconstructed juice, blend juice of *Unshiu* and *Natsudaidai*.

シアオレンジも夏橙も共にそれらのカロチノイドのエステル化率が高いことを予想させる。従って、これらの柑橘については、エステル化率を指標とする果汁混合率の判定は困難と思われる。

DI GIACOMO⁴⁾ らはマンダリン果肉とその市販果汁のキサントフィルエステル含有率に大差があることを認め、市販果汁への他の柑橘果汁の混合を指摘した。近年、我国においても種類の雑柑類の栽培が進められており、さらに温州ミカン果汁の品質改善を目的として、雑柑果汁の添加が試みられている。この場合にキサントフィルエステルを精査することによって、エステル含有量、エステル化率に大きな差があれば、カロチノイドパターンと共に果汁の純度判定に重要な指標の一つとして利用できるものと考ええる。

摘 要

温州ミカン果肉のキサントフィルの大部分は非常に極性の低いエステルとして存在している。TLC, GLC による分析の結果、それらはラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸などの高級脂肪酸エステルであった。温州ミカンの代表的な7系統の果肉を分析した結果、エステル含有量(78~84%)もエステル化率(85~90%)も共に高い値を示すとともに、系統間に殆ど差がなく、これらの値は温州ミカンに普遍的な値と考えられる。また、これらの値は、製造工程及び流通過程において殆ど変化せず、果汁の純度判定の指標となりうるものと考えた。

参 考 文 献

- 1) BENK, E., SEIBOLD, H. : Deut. Lebensm-Rundschau 62, 396—402 (1966)
- 2) CURL, A. L. : Agric. Food Chem. 1 (6), 456—459 (1953)
- 3) DI GIACOMO, A., RISPOLI, G., TITS, S. : Chem. Abstr. 69, 34786 a (1968)
- 4) DI GIACOMO, A., RISPOLI, G., AVERSA, M. C. : Ind. Conserve 43, 123—126 (1968)
- 5) KOCH, J., HAASE-SAJAK, E. : Z. Lebensm-Untersuch-Forsh. 126, 260—263 (1965)
- 6) PHILIP, T. : J. Agr. Food Chem. 21 (6), 936 (1973)
- 7) PHILIP, T. : J. Agr. Food Chem. 21 (6), 937—938 (1973)
- 8) 多田幹郎・梅田圭司・平野裕二・白石正英：食品工誌 21 (1), 25—31 (1977)
- 9) 多田幹郎：岡山大農学報：69, 17—25 (1987)
- 10) 多田幹郎・梅田圭司・伊福 靖・白石正英：食品工誌 23 (3), 113—118 (1976)
- 11) 梅田圭司・田中芳一・小野亘夫：食品工誌 18 (10), 468—472 (1971)